

#4



IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

In re Application of:

SCHERHAG et al.

Serial No. 09/811,410

Filed: March 20, 2001

)  
)  
) Art Unit:  
)  
) Examiner:  
)

For: THE USE OF ANTICOAGULANT AGENTS IN THE EXTRACORPOREAL  
TREATMENT OF BLOOD

I hereby certify that this correspondence  
is being deposited with the United States  
Postal Service as first class mail in an  
envelope addressed to Commissioner of  
Patents and Trademarks, Washington, D.C.  
20231, on:

06/21/01

Date of Deposit

Herbert B. Keil

Person Making Deposit

Signature

CLAIM TO PRIORITY

Hon. Commissioner of Patents  
and Trademarks  
Washington, D.C. 20231

Sir:

The benefit of the filing date of the following prior foreign application filed in Germany  
under the International (Paris) Convention for the Protection of Industrial Property  
(Stockholm Act July 14, 1967) is hereby requested and the right of priority provided in 35  
U.S.C. 119 is hereby claimed.

European: 00105867.6

Filed : March 20, 2000

A certified copy of the priority document is attached.

Respectfully submitted,

KEIL & WEINKAUF

Herbert B. Keil  
Reg. No. 18,967

**KEIL & WEINKAUF**  
1101 Connecticut Avenue, N.W.  
Washington, D.C. 20036



REIL & WEINKAUF  
10 Connecticut Avenue, N.W.  
Washington, D.C. 20036



Europäisches  
Patentamt

European  
Patent Office

Office européen  
des brevets



Bescheinigung

Certificate

Attestation

Die angehefteten Unterlagen stimmen mit der ursprünglich eingereichten Fassung der auf dem nächsten Blatt bezeichneten europäischen Patentanmeldung überein.

The attached documents are exact copies of the European patent application described on the following page, as originally filed.

Les documents fixés à cette attestation sont conformes à la version initialement déposée de la demande de brevet européen spécifiée à la page suivante.

Patentanmeldung Nr. Patent application No. Demande de brevet n°

00105867.6

Der Präsident des Europäischen Patentamts;  
Im Auftrag

For the President of the European Patent Office

Le Président de l'Office européen des brevets  
p.o.

I.L.C. HATTEN-HECKMAN

DEN HAAG, DEN  
THE HAGUE, 06/04/01  
LA HAYE, LE





Europäisches  
Patentamt

European  
Patent Office

Office européen  
des brevets

**Blatt 2 der Bescheinigung**  
**Sheet 2 of the certificate**  
**Page 2 de l'attestation**

Anmeldung Nr.:  
Application no.: 00105867.6  
Demande n°:

Anmeldetag:  
Date of filing: 20/03/00  
Date de dépôt:

Anmelder:  
Applicant(s):  
Demandeur(s):  
KNOLL AKTIENGESELLSCHAFT  
67061 Ludwigshafen  
GERMANY

Bezeichnung der Erfindung:  
Title of the invention:  
Titre de l'invention:

Verwendung koagulationshemmender Wirkstoffe bei der extrakorporalen Behandlung von Blut

In Anspruch genommene Priorität(en) / Priority(ies) claimed / Priorité(s) revendiquée(s)

Staat:  
State:  
Pays:

Tag:  
Date:  
Date:

Aktenzeichen:  
File no.  
Numéro de dépôt:

Internationale Patentklassifikation:  
International Patent classification:  
Classification internationale des brevets:

A61K47/48

Am Anmeldetag benannte Vertragsstaaten:  
Contracting states designated at date of filing: AT/BE/CH/CY/DE/DK/ES/FI/FR/GB/GR/IE/IT/LI/LU/MC/NL/PT/SE/   
Etats contractants désignés lors du dépôt:

Bemerkungen:  
Remarks:  
Remarques:



EPO - Munich

20

20. März 2000

## Verwendung koagulationshemmender Wirkstoff bei der extrakorpora- 5 len Behandlung von Blut

Die vorliegende Erfindung betrifft die Verwendung koagulations-  
hemmender Wirkstoffe bei der extrakorporalen Behandlung von Blut.

- 10 Extrakorporal geführtes Blut kommt mit körperfremden Oberflächen  
in Kontakt. Dadurch wird das Blutgerinnungssystem aktiviert, zum  
Beispiel Faktor XII und Blutplättchen über den intrinsischen Weg  
der Koagulationskaskade. Das Blut gerinnt. Dies zu verhindern ist  
Aufgabe der herkömmlicherweise in dieser Situation verabreichten  
15 Antikoagulantien.

- In der klinischen Praxis werden zu diesem Zweck nahezu aus-  
schließlich Heparin und heparinartige Wirkstoffe eingesetzt, ob-  
wohl deren Anwendung problematisch ist. Insbesondere wegen des  
20 allseits bekannten Risikos für HIT, Osteoporose, Fettstoffwech-  
selstörungen und Blutungskomplikationen ist eine ständige Überwa-  
chung mit Heparin behandelter Patienten erforderlich. In der Re-  
gel ist ein oftmals komplexes Dosierungsschema zu befolgen. So  
werden dem Patienten meist nach einem einleitenden Bolus von 10 -  
25 20 U/kg weitere 5 - 10 U/kg/h zugeführt, um einen vorgegebenen  
Blutspiegelwert aufrechtzuerhalten (Mehta R. L., ASAIO Journal,  
931 - 935 (1994)).

- Angesichts dieser Nachteile suchte man nach günstigen Alternati-  
30 ven zu Heparin und fand insbesondere die sogenannten niedermole-  
kularen Heparine, die außer einer verlängerten Halbwertszeit im  
Blut ein erhöhtes aXa/aIIa-Verhältnis bieten. In dieselbe Rich-  
tung zielten Versuche mit weiteren Glykosaminoglykanen, bei-  
spielsweise Heparansulfat, Dermatansulfat, Chondroitinsulfat und  
35 Gemischen davon. So besitzt Orgaran beispielsweise ein aXa/aIIa-  
Verhältnis von 22, während die meisten niedermolekularen Heparine  
in einem Bereich von 1 bis 5 liegen (Beijering et al., Seminars  
in Thrombosis and Hemostasis, Bd. 23, Nr. 2, 225 - 233 (1997)).
- 40 Eine entsprechende Suche nach einer verlängerten Halbwertszeit  
läßt sich bei den Hirudinen nachvollziehen. Im Gegensatz zu den  
zuvor diskutierten Glykosaminoglykanen handelt es sich hierbei um  
Peptide, beispielsweise natürliches aus den Speicheldrüsen des  
medizinischen Blutegels *Hirudo medicinalis* gewonnenes Hirudin  
45 oder rekombinantes Hirudin. Auch hier gab es Bestrebungen, der  
relativ kurzen Verweildauer der Hirudine im tierischen oder  
menschlichen Körper entgegenzuwirken, z.B. mit Hilfe derivati-

## 2

sierter Hirudine. In diesem Sinne beschreibt die EP 0 345 616 Dextran- und Sepharose-derivatisiertes Hirudin. Auch die in der EP 0 502 962 beschriebenen pegylierten Hirudin-Muteine wurden mit dem Ziel entwickelt, noch längere Halbwertszeiten bei unvermin-  
5 d rter Aktivität zu erreichen.

Aufgrund ihrer antikoagulativen Aktivität können die zuvor be-  
schriebenen Substanzen immer dann von Nutzen sein, wenn eine Ge-  
rinnungshemmung erwünscht ist. So nennt die EP 0 502 962 - in  
10 diesem Fall für PEG-Hirudin - die typischerweise für Antikoagu-  
lantia gelisteten Indikationen, u.a. eben auch deren Anwendung  
während der extrakorporalen Zirkulation von Blut, beispielsweise  
bei einer Hämodialyse oder einem cardio-pulmonalen Bypass.

15 Trotz des effektiven Schutzes während der eigentlichen Dialyse  
wird immer häufiger über eine unverhältnismäßig hohe Inzidenz  
vaskulärer Komplikationen vor allem bei chronisch nierenkranken  
Patienten berichtet. Was das Auftreten von schweren Gefäßkom-  
plikationen angeht, so weisen statistische Erhebungen an lang-  
20 zeitbehandelten Dialysepatienten ein hohes Risiko von 20 - 30%  
pro Jahr aus. Etwa 40 - 50% aller in den USA als Übergang zw-  
ischen extrakorporalem Kreislauf und Gefäßsystem implantierten  
künstlichen Zugänge (Shunts) müssen wegen Funktionsminderung  
(z.B. durch Verstopfung) jedes Jahr revidiert werden. Die Morta-  
25 litätsrate aufgrund von Gefäßkomplikationen bei diesen Hämodia-  
lyse-Patienten beträgt ca. 12% pro Jahr. Diese trägt bei chro-  
nisch nierenkranken Patienten selbst bei regelmäßiger Hämodialyse  
zu einer durchschnittliche Überlebenszeit von nur 6 Jahren bei.  
Diese Überlebenszeit entspricht derjenigen einer metastasierenden  
30 Tumorerkrankung.

Die der vorliegenden Erfindung zugrundeliegende Aufgabe eines um-  
fassenderen Schutzes von Patienten mit extrakorporaler Blutfüh-  
rung und vor allem dauerbehandelter Dialysepatienten wird durch  
35 die kombinierte therapeutische und prophylaktische Verwendung  
koagulationshemmender Wirkstoffe gelöst.

Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist daher die Verwendung  
koagulationshemmender Wirkstoffe zur Behandlung von Individuen  
40 mit extrakorporaler Blutführung als Antikoagulans während der ex-  
trakorporalen Blutführung und zur Prophylaxe von Gefäßkomplika-  
tionen nach der extrakorporalen Blutführung.

Erfindungsgemäß wird der Behandlungszeitraum unterteilt in Be-  
45 handlungsphasen, in denen das Blut des zu behandelnden Indivi-  
duums extrakorporal geführt wird (extrakorporale Behandlungspha-



## 3

sen), und in Behandlungsphasen, in denen das Blut nicht extrakorporal geführt wird (intrakorporale Behandlungsphasen).

Unter extrakorporaler Blutführung versteht man die Blutumleitung außerhalb des Körpers eines Individuums. Zweck ist in der Regel eine Ausnahme bestimmter Körperabschnitte vom Kreislauf und/oder eine extrakorporal durchzuführende Behandlung des Blutes. Erstere Anwendung ist vor allem angezeigt bei Operationen am eröffneten Herzen bzw. an großen Blutgefäßen, z.B. zur zeitweiligen Ausschaltung des Herzens mittels cardiopulmonalem Bypass (Herz-Lungen-Maschine). Letztere Anwendung ist vor allem angezeigt zur extrarenalen nierenfunktionellen Behandlung von Blut, beispielsweise mittels Hämodialyse bei Niereninsuffizienzen oder mittels Hämofiltration bei Niereninsuffizienzen oder anderen Zuständen, z.B. bei Patienten, die sich einer Lipidapherese unterziehen.

Wird Blut extrakorporal geführt, so gibt es zwischen Blut oder Blutbestandteilen und Oberflächen des extrakorporalen Systems Kontakte, die unter anderem zu einer Aktivierung der Blutkoagulation führen können. Dieser Umstand erfordert aus medizinischer Sicht koagulationshemmende Maßnahmen, die während der extrakorporalen Phase vor allem auf das extrakorporale System abzielen. In diesem Sinne werden erfindungsgemäß koagulationshemmende Wirkstoffe als Antikoagulans verwendet. Die koagulationshemmende Wirkung bezieht sich dabei vor allem auf die Vermeidung der Thrombusbildung und gegebenenfalls die Verringerung des Thrombuswachstums insbesondere im extrakorporalen System.

Darüber hinaus können weitere bei Anwendung eines bestimmten koagulationshemmenden Wirkstoffs zweckmäßige koagulationshemmende Maßnahmen während der extrakorporalen Phase ergriffen werden. Zweckmäßigkeit und Notwendigkeit weiterer koagulationshemmender Maßnahmen unterliegen fachmännischer Beurteilung. So können im Rahmen weiterer koagulationshemmender Maßnahmen zusätzlich zu einem bestimmten koagulationshemmenden Wirkstoff weitere Antikoagulantien zur Anwendung gebracht werden. Eine besondere Art weiterer koagulationshemmender Maßnahmen kann darin bestehen, daß man extrakorporale Systeme oder Teile davon mit Antikoagulantien ausrüstet, beispielsweise Oberflächen beschichtet.

Der Begriff "koagulationshemmend" besitzt im Rahmen der Erfindung die allgemein anerkannte Bedeutung. Demnach gehören zu den koagulationshemmenden Wirkstoffen anerkannte Antikoagulantien sowie Wirkstoffe mit ähnlicher Wirkung auf die Blutkoagulation von Wirbeltieren, vorzugsweise Säugern und insbesondere Menschen.

Eine besondere koagulationshemmende Wirkstoffklasse sind die direkten Thrombinhemmer, beispielsweise Hirudine und Hirudin-Derivate, insbesondere PEG-Hirudin.

- 5 Nach einem Aspekt der vorliegenden Erfindung sind für bestimmte erfindungsgemäße Behandlungsschemata koagulationshemmende Wirkstoffe mit einer ausgedehnten Halbwertszeit im zu behandelnden Organismus von Vorteil. In diesem Sinne sind koagulationshemmende Wirkstoffe mit einer längeren Halbwertszeit als Heparine und insbesondere unfractionierte Heparine und vor allem solche mit einer terminalen Halbwertszeit nach intravenöser Gabe von wenigstens etwa 4h, besser noch von wenigstens etwa 5 h und insbesondere von wenigstens etwa 6 h erfindungsgemäß bevorzugt. Die angegebenen terminalen Halbwertszeiten beziehen sich auf eine im wesentlichen intakte Nierenfunktion, also in der Regel eine Nierenausscheidungsleistung, die einer Creatinin-Clearance  $CL_{CR}$  von wenigstens etwa 100 ml/min entspricht.

- Nach einem weiteren Aspekt der vorliegenden Erfindung sind für bestimmte erfindungsgemäße Behandlungsschemata koagulationshemmende Wirkstoffe mit einer nachhaltigen pharmakodynamischen Wirksamkeit im zu behandelnden Organismus von Vorteil. Pharmakodynamisch wirksam sind Wirkstoffe, die erfindungsgemäß minimal prophylaktisch wirksam sind, d.h. gegenüber einer unbehandelten Kontrollgruppe eine klinisch relevante Reduktion von Gefäßkomplikationen herbeiführen. Nachhaltig meint insbesondere eine Zeitspanne, die sich über die extrakorporale Phase hinaus und speziell für den Fall eines regelmäßigen Wechsels von extra- und intrakorporalen Phasen vorteilhafterweise bis zur darauffolgenden extrakorporalen Phase erstreckt.

- Halbwertszeit und Pharmakodynamik eines koagulationshemmenden Wirkstoffs hängen nicht nur von dem gewählten Wirkstoff ab, sondern können beispielsweise auch über galenische Maßnahmen gesteuert werden. So können Wirkstoffe mit an sich kurzer Halbwertszeit bzw. pharmakodynamischer Wirksamkeit als geeignete Retard-Formulierung verabreicht werden.

- Koagulationshemmende Wirkstoffe mit verzögerter Wirkung sind beispielsweise in der EP 0 345 616 beschrieben, die bestimmte Hirudin-Derivate aus Hirudin und löslichen Trägern betrifft.

- Die Verwendung eines koagulationshemmenden Wirkstoffs mit einer ausgedehnten Halbwertszeit und einer nachhaltigen pharmakodynamischen Wirksamkeit bietet den Vorteil, sowohl als Antikoagulans während der extrakorporalen Blutführung als auch zur Prophylaxe von Gefäßkomplikationen nach der extrakorporalen Blutführung ver-

5

wendet zu werden. So ist es bevorzugt, die erfindungsgemäße Behandlung mit einem einzigen Wirkstoff durchzuführen.

Erfindungsgemäß besonders bevorzugt ist die Verwendung von PEG-Hirudin.

PEG-Hirudin steht für Polyethylenglykokonjugate des Hirudins. Der Begriff Hirudin bezeichnet hier eine Klasse koagulationshemmender Stoffe auf Polypeptidbasis, die sich vom eigentlichen Hirudin, dem natürlichen aus dem medizinischen Blutegel *Hirudo medicinalis* isolierbaren Polypeptid, ableiten. Somit umfaßt der erfindungsgemäße Begriff Hirudin auch rekombinante Varianten (r-Hirudin) genauso wie mutierte Varianten (Hirudin-Muteine). Zwecks Polyethylenglykol-Konjugation werden die in der EP 0 502 962 beschriebenen Polypeptide der Formel II und hiervon insbesondere das Polypeptid mit der erfindungsgemäßen Sequenz SEQ ID NO:1 bevorzugt. Die Konjugation der Polyethylenglykole erfolgt vorzugsweise über Lysinreste, gegebenenfalls unter Verwendung geeigneter beispielsweise in der EP 0 502 962 angegebener Linker, die vorteilhafterweise unter physiologischen Bedingungen stabil sind.

Erfindungsgemäß besonders bevorzugt ist die Verwendung von PEG-Hirudinen auf Basis des oben beschriebenen Polypeptids mit der Sequenz SEQ ID NO:1, an das in Position Lysin 27 und Position Lysin 33 jeweils ein Polyethylenglykolrest gebunden ist. Die Bindung kann beispielsweise über einen urethanartigen Linker erfolgen. Bevorzugt sind an die ε-Aminogruppe von Lysinresten gebundene Polyethylenglykolreste der Formel



worin n eine ganze Zahl von 50 bis 200, vorzugsweise von 75 bis 150 und insbesondere von 110 bis 120 ist. Dementsprechend bezeichnet der Begriff PEG-Hirudin ein in der Regel heterogenes Gemisch pegylierter Peptide mit variierenden Polyethylenglykolresten. Die Variation der Polyethylenglykolreste ist insbesondere auf eine Variation der PEG-Kettenlänge zurückzuführen, deren Molekulargewicht sich entsprechend dem Wert von n in einem Bereich von etwa 2000 bis etwa 9000, vorzugsweise von etwa 3000 bis etwa 7000 und insbesondere bei etwa 5000 +/- 1000 Da bewegt.

Gemäß einem Aspekt der vorliegenden Erfindung besitzt eine Ausführungsform von PEG-Hirudin ein mittels Ausschlußchromatographie (Superose 12, mit PEG kalibriert, Pharmacia) bestimmtes gewichtsmittleres Molekulargewicht von etwa 17,000 +/- 1000 Da.

## 6

Gemäß inem weit ren Aspekt der vorliegenden Erfindung besitzt eine vorteilhaft Ausführungsform von PEG-Hirudin eine spezifische antithrombotische Aktivität von etwa 10.000 - 14.000 ATU/mg Protein.

5

Es gibt mehrere Möglichkeiten, das extrakorporale System an das Gefäßsystem des zu behandelnden Individuums anzuschließen. Gängige Alternativen sind arteriovenöse (AV), venovenöse (VV) und venoarterielle (VA) Anschlußarten, womit jeweils die Blutfluß-  
10 richtung bezogen auf das korporale Gefäßsystem beschrieben wird. Beispielsweise beschreibt ein arteriovenöser Anschluß ein extrakorporales System, welches arterielles Blut aus dem Körper des Individuums aufnimmt und - gegebenenfalls nach entsprechender Behandlung - an das venöse System des Körpers zurückführt. Im Be-  
15 reich der Hämodialyse und Hämofiltration werden in der Regel AV- und VV-Anschlüsse bevorzugt. Während extrakorporale VV- und VA-Systeme in der Regel mit einer externen Pumpe betrieben werden, ist dies bei extrakorporalen AV-Systemen - einen ausreichenden arteriellen Blutdruck vorausgesetzt - nicht erforderlich. Die Do-  
20 sierung koagulationshemmender Wirkstoffe und adjuvanter Antikoagulantien kann bei verschiedenen Anschlußarten unterschiedlich sein, z.B. können bei der Verwendung von Pumpen höhere Dosierungen erforderlich sein.

25 Der Zugang zum korporalen Gefäßsystem kann beispielsweise durch Einführung röhrenförmiger Zuleitungen in korporale Gefäße erfolgen. Geeignet sind beispielsweise Kanülen oder Katheter, deren Abmessungen, also insbesondere Länge und Innendurchmesser, dem jeweiligen System angepaßt werden können. Beispielsweise werden  
30 kurze und großlumige Katheter für AV-Systeme, und Doppellumenkatheter für VV-Systeme bevorzugt. Üblicherweise werden als adäquater Zugang zum korporalen Gefäßsystem sogenannte Shunts verwendet, z.B. in Form von synthetischen Gefäßimplantaten oder Fisteln.

35

In bestimmten Fällen wird das Blut an Filtern oder Membranen entlang oder durch diese hindurch geführt. Es kann erforderlich sein, die Membranwahl je nach koagulationshemmendem Wirkstoff zu treffen. Die erfindungsgemäße Verwendung von PEG-Hirudin eignet  
40 sich für gängige, insbesondere im Bereich der Hämodialyse und Hämofiltration eingesetzten Membran- und Filtrationssysteme. Hierzu gehören Membrane aus natürlichen Materialien, wie Cellulosederivaten, z.B. Cellulosetriacetat, und synthetischen Materialien, z.B. Polysulfonen, Polyamiden, Polyacrylnitril. Plattenfilter und  
45 Hohlfaser-Anordnungen sind Beispiele möglicher Geometrien. Ein Vorteil der Verwendung von PEG-Hirudin ist, daß es sich sowohl für extrakorporale Systeme mit HF-Membranen (High Flux) als auch

## 7

- solche mit LF-Membranen (Low Flux) eignet. Ferner ist von Vorteil, daß PMMA-Membran n, beispielsweise die in der DE 197 15 504 A1 beschriebenen Membranen aus Polymethylmethacrylat oder Polymethylmethacrylat-Mischpolymeren, z.B. die zu diesem Zweck bekannte Toray-Membran) aufgrund ihrer besonderen Bindungseigenschaften für PEG-Hirudin als funktionelles Antidot zur raschen Ausscheidung von PEG-Hirudin, z.B. bei Unverträglichkeitsreaktionen oder Überdosierung, verwendet werden können.
- 10 Zweck der erfindungsgemäßen Verwendung koagulationshemmender Wirkstoffe ist zusätzlich zu demjenigen als Antikoagulans während der extrakorporalen Blutführung die Prophylaxe von Gefäßkomplikationen nach der extrakorporalen Blutführung.
- 15 Zu Gefäßkomplikationen gehören erfindungsgemäß Funktionsstörungen der cerebralen, cardialen, mesenterialen und peripheren Vaskulatur und damit zusammenhängende Erkrankungszustände bzw. deren Symptome. Hierzu zählen beispielsweise die Thrombenbildung im Gefäßsystem des zu behandelnden Individuums, also insbesondere
- 20 Thrombosen venöser und arterieller Art, insbesondere tiefe Venenthrombosen, periphere Verschußkrankheiten, Shunt-Thrombosen, Katheterthrombosen, Thromboembolien, Herzinfarkt, instabile Angina pectoris und Schlaganfall. Dementsprechend bietet die erfindungsgemäße Verwendung koagulationshemmender Wirkstoffe besondere
- 25 Vorteile bei Individuen mit einem erhöhten Risiko für Gefäßkomplikationen. Zu risikoerhöhenden Faktoren gehören sowohl Störungen des Gerinnungssystems, insbesondere AT-III-Defizite und erhöhte Fibrinogenspiegel, Thrombocytose, HIT, als auch Hypertonie und Vorerkrankungen wie koronare Herzerkrankung, Diabetes oder
- 30 weitere Gefäßerkrankungen.

- Die erfindungsgemäße Verwendung koagulationshemmender Wirkstoffe zur Prophylaxe von Gefäßkomplikationen erstreckt sich zumindest auf einen Zeitraum, welcher der extrakorporalen Blutführung zeitlich nachgeordnet ist und sich gemäß einer besonderen Ausführungsform der vorliegenden Erfindung unmittelbar an sie anschließt. Im Falle einer mehrmaligen, d.h. zeitlich unterbrochenen extrakorporalen Blutführung, also insbesondere einer periodischen Abfolge extra- und intrakorporaler Phasen erstreckt sich
- 35 dieser Zeitraum idealerweise bis zur jeweils nächsten extrakorporalen Phase. Gemäß einer besonderen Ausführungsform der vorliegenden Erfindung werden koagulationshemmende Wirkstoffe zur Behandlung eines Individuums bei mehrmaligem Wechsel von extra- und intrakorporaler Phase während der extrakorporalen Phasen als Antikoagulans und während der intrakorporalen Phasen zur Prophylaxe
- 45 von Gefäßkomplikationen verwendet. Der Vollständigkeit halber sei ausgeführt, daß die Verwendung als Antikoagulans während der ex-

trakorporalen Phase ebenfalls eine prophylaktische Behandlung von Gefäßkomplikationen miteinschließen kann und dies in der Regel auch der Fall ist.

- 5 Die erfindungsgemäße Verwendung koagulationshemmender Wirkstoffe beinhaltet im Rahmen der Behandlung ein Verfahren. Dabei wird dem zu behandelnden Individuum, vorzugsweise einem Säuger, insbesondere einem Menschen, Nutz- oder Haustier, eine angemessene Menge einer oder mehrerer koagulationshemmender Wirkstoffe, in der Regel der humanpharmazeutischen oder tierarzneilichen Praxis entsprechend formuliert, verabreicht.

- Die Verabreichung koagulationshemmender Wirkstoffe kann einer - in der Regel erforderlichen - systemischen Wirkstoffverabreichung entsprechend erfolgen. Von den möglichen Verabreichungswegen bietet der parenterale Weg und hier vor allem die Injektion mit der Blutfront in das Dialysesystem, insbesondere über ein Zuführungsmittel, eine bequeme Möglichkeit, eine angemessene Menge koagulationshemmender Wirkstoffe zu verabreichen.

- 20 Mit Blick auf die extrakorporale Blutführung wird die Zweckmäßigkeit der zu verabreichenden Menge koagulationshemmender Wirkstoffe vor allem von der koagulationshemmenden Wirkung der resultierenden Blutspiegelwerte bestimmt. Gemäß einem Aspekt der vor-
- 25 liegenden Erfindung sind Werte im therapeutischen Bereich zweckmäßig. Therapeutisch meint hier eine Wirkung, die den während der extrakorporalen Blutführung auftretenden thrombotischen Reizen entgegenzuwirken vermag. In diesem Sinne von Vorteil sind Blutspiegelwerte auf anti-IIa-Basis von wenigstens etwa 400 ng/ml,
- 30 vorzugsweise von wenigstens etwa 500 ng/ml und insbesondere von wenigstens etwa 600 ng/ml. Mißt man die APTT, so ergibt sich vorteilhafterweise eine wenigstens etwa 1,3-fach, vorzugsweise eine wenigstens etwa 1,6-fach und insbesondere eine wenigstens etwa 1,8-fach verlängerte APTT. Mißt man die ECT, so ergibt sich vorteilhafterweise eine wenigstens etwa 1,2-fach, vorzugsweise eine
- 35 wenigstens etwa 1,6-fach und insbesondere eine wenigstens etwa 1,8-fach verlängerte ECT.

- Nach einem weiteren Aspekt der vorliegenden Erfindung sind Werte
- 40 zweckmäßig, die das Blutungsrisiko des behandelten Individuums in Grenzen halten. In diesem Sinne von weiterem Vorteil sind Blutspiegelwerte etwa 5 Minuten nach Verabreichung auf anti-IIa-Basis von höchstens etwa 2400 ng/ml, vorzugsweise von höchstens etwa 1700 ng/ml und insbesondere von höchstens etwa 1500 ng/ml. Mißt
- 45 man die APTT, so ergibt sich vorteilhafterweise eine höchstens etwa 5,0-fach, vorzugsweise eine höchstens etwa 3,3-fach und insbesondere eine höchstens etwa 2,7-fach verlängerte APTT. Mißt man

die ECT, so ergibt sich vorteilhafterweise eine höchstens etwa 5,5-fach, vorzugsweise ein höchstens etwa 4,5-fach und insbesondere eine höchstens etwa 4,0-fach verlängerte ECT.

- 5 Die vorstehend genannten Werte müssen - soweit medizinisch vertretbar - nicht während der gesamten extrakorporalen Phase eingehalten werden. Gemäß einer vorteilhaften Ausführungsform der vorliegenden Erfindung wird die Menge an zu verabreichendem koagulationshemmenden Wirkstoff so bemessen, daß bei Abschluß der extrakorporalen Blutführung die zuvor genannten Mindest-Blutspiegelwerte erhalten werden. Gemäß einer weiteren vorteilhaften Ausführungsform der vorliegenden Erfindung gelten die vorstehend genannten Werte für den Zeitraum, der einerseits durch das Erreichen eines maximalen Blutspiegelwertes und andererseits durch den Abschluß der extrakorporalen Phase begrenzt wird.

- Der Zeitpunkt der Verabreichung eines koagulationshemmenden Wirkstoffs und gegebenenfalls weiterer Antikoagulantien wird zweckmäßigerweise so gewählt, daß bereits in der Anfangsphase der extrakorporalen Blutführung eine koagulationshemmende Wirkung gewährleistet ist. Dazu kann die Verabreichung vor dem Anschluß an das extrakorporale System erfolgen. Auch die Verabreichung unmittelbar mit dem Anschluß an das extrakorporale System ist möglich und kann in diesem Fall bequemerweise über das extrakorporale System erfolgen. Erfolgt die Verabreichung unmittelbar mit dem Anschluß an das System, geschieht dies in der Regel mit der Blutfront oder - soweit der residuelle Spiegel an koagulationshemmendem Wirkstoff des Patienten dies aus medizinischer Sicht zuläßt - kurz danach. Die Verabreichung über das extrakorporale System ist erfindungsgemäß unter den Begriff der parenteralen Verabreichung und - bei venösem Anschluß des extrakorporalen Systems - insbesondere unter den Begriff der intravenösen Verabreichung zu fassen.

- 35 Mit Blick auf die erfindungsgemäße Behandlung nach der extrakorporalen Blutführung wird die Zweckmäßigkeit der zu verabreichenden Menge an PEG-Hirudin vor allem von der prophylaktischen Wirkung der resultierenden Blutspiegelwerte bestimmt. Eine prophylaktische Wirkung ist in diesem Zusammenhang eine antithrombotische Wirkung, die dem verhältnismäßig schwachen thrombotischen Reiz nach der extrakorporalen Blutführung angepaßt sein kann. Für den Zeitraum einer intrakorporalen Behandlungsphase können zweckmäßige Blutspiegelwerte in der Regel niedriger gewählt werden als diejenigen Blutspiegelwerte, die während der extrakorporalen Blutführung erhalten werden. Nach einem Aspekt der vorliegenden Erfindung sind - gemessen an den während der extrakorporalen Blutführung erhaltenen therapeutischen Blutspiegelwerten - Werte



## 10

im prophylaktisch wirksamen Bereich möglich. In diesem Sinne von Vorteil sind Blutspiegelwerte koagulationshemmender Wirkstoffe nach der extrakorporalen Blutführung auf anti-IIa-Basis von wenigstens etwa 150 ng/ml, vorzugsweise von wenigstens etwa 300 ng/ml und insbesondere von wenigstens etwa 400 ng/ml. Mißt man die APTT, so ergibt sich vorteilhafterweise eine wenigstens etwa 1,2-fach, vorzugsweise eine wenigstens etwa 1,3-fach und insbesondere eine wenigstens etwa 1,5-fach verlängerte APTT. Mißt man die ECT, so ergibt sich vorteilhafterweise eine wenigstens etwa 1,1-fach, vorzugsweise eine wenigstens etwa 1,3-fach und insbesondere eine wenigstens etwa 1,4-fach verlängerte ECT. Insbesondere bewegen sich die Blutspiegelwerte während einer intrakorporalen Phase zwischen dem bei Abschluß der extrakorporalen Blutführung vorliegenden Blutspiegelwert und den vorstehend genannten Mindestwerten. Als Funktion der Zeit nehmen die Blutspiegelwerte in der Regel ab.

Auch diese Werte müssen nicht notwendigerweise während der gesamten intrakorporalen Phase eingehalten werden. Gemäß einer weiteren vorteilhaften Ausführungsform der vorliegenden Erfindung wird die Menge an zu verabreichendem koagulationshemmenden Wirkstoff so bemessen, daß bei periodischer Abfolge von extra- und intrakorporalen Phasen am Ende der intrakorporalen Phasen Blutspiegelwerte auf anti-IIa-Basis von wenigstens etwa 150 ng/ml, vorzugsweise von wenigstens etwa 300 ng/ml und insbesondere von wenigstens etwa 400 ng/ml erhalten werden. Mißt man die APTT, so ergibt sich vorteilhafterweise eine wenigstens etwa 1,2-fach, vorzugsweise eine wenigstens etwa 1,3-fach und insbesondere eine wenigstens etwa 1,5-fach verlängerte APTT. Mißt man die ECT, so ergibt sich vorteilhafterweise eine wenigstens etwa 1,1-fach, vorzugsweise eine wenigstens etwa 1,3-fach und insbesondere eine wenigstens etwa 1,4-fach verlängerte ECT. Andererseits sind zu diesem Zeitpunkt Blutspiegelwerte auf anti-IIa-Basis von höchstens etwa 1000 ng/ml, vorzugsweise von höchstens etwa 700 ng/ml und insbesondere von höchstens etwa 600 ng/ml von Vorteil. Mißt man die APTT, so ergibt sich vorteilhafterweise eine höchstens etwa 3,5-fach, vorzugsweise eine höchstens etwa 2,8-fach und insbesondere eine höchstens etwa 2,5-fach verlängerte APTT. Mißt man die ECT, so ergibt sich vorteilhafterweise eine höchstens etwa 4,0-fach, vorzugsweise eine höchstens etwa 3,0-fach und insbesondere eine höchstens etwa 2,5-fach verlängerte ECT.

Je nach Höhe der bei Abschluß der extrakorporalen Blutführung vorliegenden therapeutischen Blutspiegelwerte werden subtherapeutische Blutspiegelwerte in der Regel erst nach einer bestimmten Übergangszeit im Anschluß an die extrakorporale Blutführung erhalten. Die Übergangszeit von therapeutischen zu subtherapeuti-



## 11

schen und vor allem prophylaktischen Blutspiegelwerten bemißt sich nach der natürlichen oder gegebenenfalls künstlichen Eliminierung koagulationshemmender Wirkstoffe aus dem Blut des behandelten Individuums.

5

Einen besonderen Aspekt der vorliegenden Erfindung bildet die Behandlung von niereninsuffizienten Individuen. Unter Niereninsuffizienz wird erfindungsgemäß eine ungenügende oder ausgefallene Ausscheidungsleistung der Niere verstanden. Hierzu gehören vor  
10 allem Individuen mit einer Creatinin-Clearance  $CL_{CR}$  von weniger als 100 ml/min, vor allem weniger als 50 ml/min und insbesondere weniger als 10 ml/min.

Gemäß einer Ausführungsform der vorliegenden Erfindung werden In-  
15 dividuen mit akuter Niereninsuffizienz, d.h. mit vorübergehender ungenügender oder ausgefallener Ausscheidungsleistung der Niere, behandelt. In diesem Fall wird das Blut des betroffenen Individuums so lange extrakorporal behandelt, bis eine ausreichende Nierenausscheidungsleistung wieder hergestellt ist. Die Dauer der  
20 extrakorporalen Phase variiert naturgemäß von Fall zu Fall, im Durchschnitt beträgt sie mehrere Tage. Diese Behandlungsart wird erfindungsgemäß als kontinuierliche Hämodiltration bezeichnet. Eine Behandlung mit einer Dauer von wenigstens etwa 3 Tagen und insbesondere von wenigstens etwa 5 Tagen stellt eine besondere  
25 Ausführungsform der vorliegenden Erfindung dar.

Eine weitere besondere Ausführungsform der vorliegenden Erfindung richtet sich auf die Behandlung chronisch niereninsuffizienter Individuen. Dies sind Individuen, deren Nierenausscheidungslei-  
30 stung auf Dauer ungenügend oder ausgefallen ist. In diesem Fall erfolgt die extrakorporale Blutführung regelmäßig. Sowohl die Dauer extrakorporaler Phasen als auch die Abstände zwischen den extrakorporalen Phasen, die gemäß einer besonderen Ausführungsform der vorliegenden Erfindung den intrakorporalen Behandlungs-  
35 phasen entsprechen, werden dem Zustand des Individuums insbesondere unter Berücksichtigung einer gegebenenfalls verbleibenden Nierenausscheidungsleistung angepaßt. Die vorliegende Erfindung richtet sich vor allem auf die Behandlung von Individuen mit mindestens einmaliger extrakorporaler Blutführung pro Woche und ins-  
40 besondere auf Individuen mit fortgeschrittener chronischer Niereninsuffizienz und dementsprechender durchschnittlich wenigstens etwa zweimaliger und insbesondere etwa dreimaliger extrakorporaler Blutführung pro Woche. Diese Behandlungsart wird erfindungsgemäß als intermittierende (periodische) Hämodialyse bezeichnet  
45 und stellt gemäß einer besonderen Ausführungsform der vorliegen-

## 12

den Erfindung eine Dauerbehandlung aus abwechselnden extra- und intrakorporalen Behandlungsphasen dar.

Im Rahmen dieser die intermittierende Hämodialyse b treffenden  
5 Ausführungsform können zweckmäßige Blutspiegelwerte dadurch erreicht werden, daß man eine angemessene Menge an koagulationshemmendem Wirkstoff pro Zyklus als Einmalgabe oder durch mehrere Gaben verabreicht. Gemäß einer besondere Ausführungsform der vorliegenden Erfindung wird der koagulationshemmende Wirkstoff in  
10 Form einer Einzeldosis pro Zyklus, mithin einmal pro Hämodialyse, verabreicht.

Ein Zyklus setzt sich zusammen aus einer extrakorporalen und einer intrakorporalen Phase. Zweckmäßigerweise erfolgt die Verab-  
15 reichung insbesondere im Falle einer Einzeldosis zu Beginn eines Zyklus, d.h. zu Beginn einer extrakorporalen Phase. Sie kann aber auch zu einem anderen Zeitpunkt innerhalb eines Zyklus erfolgen, beispielsweise nach Abschluß der extrakorporalen Blutführung. Die Einzeldosis, vorzugsweise als Bolus, kann vorteilhafterweise so  
20 bemessen werden, daß eine weitere Gabe von koagulationshemmendem Wirkstoff mit Beginn des jeweils nächsten Zyklus erfolgt. Als Bemessungsgrundlage für jede Einzeldosis kann der jeweilige vor Beginn eines Zyklus gemessene Blutspiegelwert des koagulationshemmenden Wirkstoffs dienen. Durch die Verabreichung der Einzeldosis  
25 wird dann der entsprechende Blutspiegelwert angehoben. Er erreicht einen Maximalwert, der in einem dem Zweck einer koagulationshemmenden Maßnahme entsprechenden Bereich liegt. Blutspiegelwerte etwa 5 Minuten nach Verabreichung auf anti-IIa-Basis von wenigstens etwa 600 ng/ml, vorzugsweise von wenigstens etwa 700  
30 ng/ml und insbesondere von wenigstens etwa 800 ng/ml sind von Vorteil. Mißt man die APTT, so ergibt sich vorteilhafterweise eine wenigstens etwa 1,5-fach, vorzugsweise eine wenigstens etwa 1,9-fach und insbesondere eine wenigstens etwa 2,3-fach verlängerte APTT. Mißt man die ECT, so ergibt sich vorteilhafterweise  
35 eine wenigstens etwa 1,5-fach, vorzugsweise eine wenigstens etwa 2,0-fach und insbesondere eine wenigstens etwa 2,5-fach verlängerte ECT.

Unter Beachtung des Blutungsrisikos sollten diese Maximalwerte  
40 andererseits so gering wie möglich gehalten werden. Ein Vorteil der Verwendung von PEG-Hirudin ist es, daß diese Maximalwerte auf anti-IIa-Basis weniger als etwa 2400 ng/ml, vorzugsweise weniger als etwa 1700 ng/ml und insbesondere weniger als etwa 1500 ng/ml betragen können. So kann die APTT weniger als etwa 5,0-fach, vor-  
45 zugsweise weniger als etwa 3,3-fach und insbesondere weniger als etwa 2,7-fach und die ECT weniger als etwa 5,5-fach, vorzugsweise

## 13

weniger als etwa 4,5-fach und insbesondere weniger als etwa 4,0-fach verlängert sein.

Als Funktion der Z it nehmen die Blutspiegelwerte während der extrakorporalen Phase ab. Vorteilhafterweise bleiben die Blutspiegelwerte während der extrakorporalen Phase im therapeutischen Bereich. Die oben in diesem Zusammenhang genannten Blutspiegelwerte sind auch hier von Vorteil. Andererseits sind bei Abschluß der extrakorporalen Phase Blutspiegelwerte auf anti-IIa-Basis von  
10 höchstens etwa 2000 ng/ml, vorzugsweise von höchstens etwa 1500 ng/ml und insbesondere von höchstens etwa 1100 ng/ml von Vorteil. Mißt man die APTT, so ergibt sich vorteilhafterweise eine höchstens etwa 4,5-fach, vorzugsweise eine höchstens etwa 3,0-fach und insbesondere eine höchstens etwa 2,5-fach verlängerte APTT.  
15 Mißt man die ECT, so ergibt sich vorteilhafterweise eine höchstens etwa 4,0-fach, vorzugsweise eine höchstens etwa 3,5-fach und insbesondere eine höchstens etwa 3,0-fach verlängerte ECT.

Erfindungsgemäß kann die Verwendung koagulationshemmender Wirkstoffe im Rahmen der intermittierenden Hämodialyse bei im wesentlichen gleichbleibender Einzeldosierung erfolgen. Demgemäß wird einem Individuum eine Menge an koagulationshemmendem Wirkstoff verabreicht, die von Zyklus zu Zyklus im wesentlichen konstant bleibt. Diese Menge kann auf individuelle, vor allem dosierungsbeeinflussende Parameter, z.B. das Körpergewicht des zu behandelnden Individuums, bezogen sein, es kann aber auch eine fixe Dosis pro Individuum verwendet werden. Es ist allerdings zu beachten, daß bei Therapiebeginn eine Adaptation an den erfindungsgemäß verwendeten koagulationshemmenden Wirkstoff erforderlich  
20 sein kann. So muß beispielsweise zu Beginn der regelmäßigen Verabreichung von PEG-Hirudin an chronisch niereninsuffiziente Patienten eine höhere Dosierung gewählt werden, um zweckmäßige Blutspiegelwerte zu erhalten. Die Dosierung kann dann von Zyklus zu Zyklus auf ein Niveau geführt werden, welches im weiteren Verlauf der regelmäßigen Verabreichung von PEG-Hirudin im wesentlichen konstant bleibt. Die Adaptationsphase umfaßt in der Regel mehrere Zyklen, vorzugsweise weniger als 15 und insbesondere weniger als 10, wobei vorteilhafterweise nach etwa 5 Zyklen eine Dosierung gewählt werden kann, die bei höchstens etwa +/- 25% bzw. insbesondere bei +/- 10% und bevorzugt im wesentlichen bei der angestrebten konstanten Dosierung liegt.  
30  
35  
40

Erfolgt die Verabreichung der koagulationshemmenden Wirkstoffe bei im wesentlichen gleichbleibender Dosierung, kann sich die  
45 Überwachung des Individuums auf die Kontrolle des jeweiligen Blutspiegelwertes vor einer extrakorporalen Phase und gegebenenfalls die Kontrolle des jeweiligen Blutspiegelwertes nach Verab-

## 14

reichung der Einzeldosis beschränken. Erstere Kontrolle dient vor allem als Bemessungsgrundlage für die erforderliche Dosierung, letztere zur Vermeidung eines erhöhten Blutungsrisikos aufgrund eventuell überhöhter maximaler Blutspiegelwerte. In diesem Zusammenhang sei erwähnt, daß die Verwendung von PEG-Hirudin vorteilhafterweise die Möglichkeit bietet, PEG-Hirudin effektiv aus dem Blut eines Individuums zu eliminieren. Auf die oben beschriebenen, zu diesem Zweck bekannten Membranen wird Bezug genommen.

- 10 Gemäß einer besonderen Ausführungsform der vorliegenden Erfindung ist die vorzugsweise zu Beginn einer Hämodialyse verabfolgte Einzeldosis so bemessen, daß sich die Konzentration an koagulationshemmendem Wirkstoff während der Hämodialyse in einem Bereich von etwa 400 ng/ml bis etwa 2400 ng/ml, vorzugsweise in einem Bereich von etwa 500 ng/ml bis etwa 1700 ng/ml und insbesondere in einem Bereich von etwa 600 ng/ml bis etwa 1500 ng/ml auf anti-IIa-Basis bewegt. In diesem Sinne mißt man eine in einem Bereich von etwa 1,3-fach bis etwa 5,0-fach, vorzugsweise in einem Bereich von etwa 1,6-fach bis etwa 3,3-fach und insbesondere in einem Bereich von etwa 1,8-fach bis etwa 2,7-fach verlängerte APTT oder eine in einem Bereich von etwa 1,2-fach bis etwa 5,5-fach, vorzugsweise in einem Bereich von etwa 1,6-fach bis etwa 4,5-fach und insbesondere in einem Bereich von etwa 1,8-fach bis etwa 4,0-fach verlängerte ECT:

- 25 Gemäß einer weiteren besonderen Ausführungsform der vorliegenden Erfindung ist die anlässlich einer Hämodialyse verabfolgte Einzeldosis so bemessen, daß sich die Konzentration an koagulationshemmendem Wirkstoff nach Abschluß einer Hämodialyse bis zur darauffolgenden in einem Bereich von etwa 2000 ng/ml bis etwa 150 ng/ml, vorzugsweise in einem Bereich von etwa 1500 ng/ml bis etwa 300 ng/ml und insbesondere in einem Bereich von etwa 1100 ng/ml bis etwa 400 ng/ml auf anti-IIa-Basis bewegt. In diesem Sinne mißt man eine in einem Bereich von etwa 4,5-fach bis etwa 1,2-fach, vorzugsweise in einem Bereich von etwa 3,0-fach bis etwa 1,3-fach und insbesondere in einem Bereich von etwa 2,5-fach bis etwa 1,5-fach verlängerte APTT oder eine in einem Bereich von etwa 4,5-fach bis etwa 1,1-fach, vorzugsweise in einem Bereich von etwa 3,5-fach bis etwa 1,3-fach und insbesondere in einem Bereich von etwa 3,0-fach bis etwa 1,4-fach verlängerte ECT.

- Im Rahmen der vorstehend beschriebenen besonderen Ausführungsformen der vorliegenden Erfindung kann die anlässlich einer Hämodialyse verabfolgte Einzeldosis vorteilhafterweise so bemessen sein, daß etwa 5 Minuten nach Verabreichung die Konzentration an koagulationshemmendem Wirkstoff auf anti-IIa-Basis wenigstens etwa 600 ng/ml, vorzugsweise wenigstens etwa 700 ng/ml und insbeson-

## 15

dere wenigstens etwa 800 ng/ml beträgt. Mißt man die APTT, so ergibt sich vorteilhafterweise eine wenigstens etwa 1,5-fach, vorzugsweise eine wenigstens etwa 1,9-fach und insbesondere eine wenigstens etwa 2,3-fach verlängerte APTT. Mißt man die ECT, so ergibt sich vorteilhafterweise eine wenigstens etwa 1,5-fach, vorzugsweise eine wenigstens etwa 2,0-fach und insbesondere eine wenigstens etwa 2,5-fach verlängerte ECT.

Die vorstehend beschriebenen Blutspiegelwerte lassen sich in der Regel mit Bolus-Dosierungen im Bereich von etwa 200 bis etwa 1400 ATU/kg, vorzugsweise von etwa 400 ATU/kg bis etwa 1200 ATU/kg und insbesondere von etwa 600 ATU/kg bis etwa 1000 ATU/kg Körpergewicht erhalten. Nach erfolgter Adaption kann die Behandlung chronisch niereninsuffizienter Individuen bei durchschnittlich dreimaliger extrakorporaler Blutführung pro Woche mit einer Dosierung von etwa 200 bis etwa 1000 ATU/kg, vorzugsweise von etwa 200 ATU/kg bis etwa 800 ATU/kg und insbesondere von etwa 400 ATU/kg bis etwa 600 ATU/kg Körpergewicht erfolgen. Die Abkürzung ATU steht für Antithrombin-Einheiten, bezogen auf den WHO I-Thrombin Standard.

Insbesondere kann die Behandlung eines chronisch niereninsuffizienten Individuums bei durchschnittlich dreimaliger extrakorporaler Blutführung pro Woche mit einer Dosierung von etwa 0,02 bis etwa 1,0 mg PEG-Hirudin und nach erfolgter Adaption mit einer Dosierung von etwa 0,03 bis etwa 0,06 mg, jeweils auf kg Körpergewicht bezogen, erfolgen bei Verwendung eines PEG-Hirudins mit einer spezifischen Aktivität von etwa 10000 bis 14000 ATU/mg Protein und insbesondere einer spezifischen Aktivität von etwa 13350 ATU/mg Protein.

Die Erfindung betrifft auch die Verwendung koagulationshemmender Wirkstoffe zur Herstellung pharmazeutischer Mittel zur erfindungsgemäßen Behandlung. So werden koagulationshemmende Wirkstoffe gewöhnlich in Form pharmazeutischer Zusammensetzungen verabreicht, die neben dem Wirkstoff wenigstens einen pharmazeutisch verträglichen Hilfsstoff umfassen.

Der parenteralen Verabreichung entsprechend werden die pharmazeutischen Mittel vorzugsweise als flüssige Arzneiform verabreicht. Besonders bevorzugt sind Wirkstofflösungen in wäßrigen Medien, wie Wasser oder physiologischer Kochsalzlösung.

Für den praktischen Gebrauch können koagulationshemmende Wirkstoffe, insbesondere PEG-Hirudin, in fester, vor allem lyophilisierter Form und getrennt davon das Lösungsmittel angeboten werden. Wirkstoff und Lösungsmittel können aliquotiert in geeigneten

## 16

Behältnissen, z.B. Vials, abgepackt sein, wodurch eine bequeme Rekonstitution einer Lösung bekannter Konzentration ermöglicht wird. Mit Blick auf die oben beschriebenen bevorzugten Dosierungen bieten sich beispielsweise 2 bzw. 10 ml-Behältnisse mit jeweils 5 bzw. 50 mg PEG-Hirudin an; Vials mit 50 mg PEG-Hirudin können als Mehrfachentnahmebehältnisse (Rekonstitution des Wirkstoffs mit einer konservierten Lösung) angeboten werden.

Der Begriff Blutspiegelwert bezieht sich auf eine bestimmte Menge an koagulationshemmendem(n) Wirkstoff(en) im Blut eines Individuums, die bei Anwendung der in den Referenzbeispielen beschriebenen Bestimmungsverfahren durch einen oder gegebenenfalls auch mehrere der angegebenen Aktivitätswerte ausgedrückt werden kann.

Die Angaben auf anti-IIa-Basis zu Konzentration koagulationshemmender Wirkstoffe beziehen sich auf den Proteinanteil des verwendeten PEG-Hirudins. Für andere anti-IIa-aktive Substanzen gelten äquivalente Mengen.

Die Messung der ECT (Ecarin Clotting Time) bezieht sich erfindungsgemäß auf die Verwendung von direkten Thrombinhemmern.

Die angegebenen Blutspiegelwerte stellen durchschnittliche Werte dar, die sich auf ein Kollektiv aus wenigstens etwa 10 Individuen beziehen. So wird aufgrund der biologischen Variabilität der Wert eines einzelnen Individuums in der Regel von dem angegebenen statistischen Durchschnittswert im Rahmen der statistischen Bewertung abweichen und dennoch dem Durchschnittswert zuzuordnen sein.

Die angegebenen Blutspiegelwerte sind Richtwerte, die im Rahmen der Meßgenauigkeit auch in Bezug auf dieselbe Meßprobe variieren können. Meßgenauigkeiten für die einzelnen Bestimmungsmethoden sind in den Referenzbeispielen angegeben. Diese Variation wird durch das jeweils einem Wert vorangestellte "etwa" ausgedrückt.

Durch das folgende Beispiel soll die Erfindung erläutert werden, ohne darauf beschränkt zu sein.

Beispiel:

Behandlung von Dialysepatienten mit PEG-Hirudin

20 männliche und weibliche Patienten zwischen 18 und 75 Jahren, die sich regelmäßig einer Hämodialyse unterziehen müssen, wurden ausgewählt. Nach einer anfänglichen Behandlung mit Heparin (UFH) wurde jedem Patient unmittelbar vor der ersten Dialyse unter PEG-Hirudin-Behandlung eine Dosis von 0,08 mg/kg Körpergewicht PEG-

## 17

Hirudin mit einer spezifischen Antithrombinaktivität von 13.354 ATU/mg Protein intravenös injiziert. Es folgte die Hämodialyse mit einer durchschnittlichen Dauer von 4 Stunden, 3 x pro Woche unter Verwendung einer Hemophan low flux membran in einem GFS plus 16 Dialysator. Mit Abschluß der Dialyse und vor den nachfolgenden Dialysesitzungen wurden zunächst die PEG-Hirudin-Konzentrationen im Blut des Patienten bestimmt. Die gemessenen Werte dienten als Bemessungsgrundlage für die jeweils unmittelbar vor der Hämodialyse zu verabreichenden PEG-Hirudin-Dosen. Die zunächst zunehmenden residuellen PEG-Hirudin-Konzentrationen gestatteten eine Verringerung der Dosis von anfänglich 0,08 mg/kg Körpergewicht auf 0,03 bis 0,05 mg/kg Körpergewicht. Es zeigte sich, daß diese Dosierung geeignet war, bei dreimaliger Hämodialyse pro Woche Blutspiegelwerte von PEG-Hirudin bei Abschluß jeder Dialyse im Bereich von etwa 500 bis etwa 1000 ng/ml Vollblut zu erhalten. Die residuelle PEG-Hirudin-Konzentration im Blut eines jeden Patienten zwischen den Hämodialysesitzungen gewährten einen prophylaktischen Schutz gegen vaskuläre Komplikationen.

In den Tabellen 1 bis 3 sind die Resultate zusammengestellt.

In den Zeichnungen zeigt

Figur 1 am Beispiel des Patienten 15 die anläßlich der Dialysen 1 bis 50 verabreichten PEG-Hirudin-Dosen (Balken) sowie die nach einigen Dialysesitzungen gemessenen Blutspiegelwerte von PEG-Hirudin (Punkte);

Figur 2 am Beispiel des Patienten 16 die anläßlich der Dialysen 1 bis 47 verabreichten PEG-Hirudin-Dosen (Balken) sowie die nach einigen Dialysesitzungen gemessenen Blutspiegelwerte von PEG-Hirudin (Punkte);

Figur 3 am Beispiel des Patienten 18 die anläßlich der Dialysen 1 bis 49 verabreichten PEG-Hirudin-Dosen (Balken) sowie die nach einigen Dialysesitzungen gemessenen Blutspiegelwerte von PEG-Hirudin (Punkte);

Figur 4 am Beispiel des Patienten 20 die anläßlich der Dialysen 1 bis 31 verabreichten PEG-Hirudin-Dosen (Balken) sowie die nach einigen Dialysesitzungen gemessenen Blutspiegelwerte von PEG-Hirudin (Punkte).

45

Tabelle 1: Bestimmung der APTT

Nr. der Dialyse	APTT		APTT
	Vor Dialyse [ratio]	Bolus 5' p.a. [ratio]	Nach Dialyse [ratio]
10	01-UFH	1.0	6.9 (4.2-8.8)
	02-UFH	1.0	-
	03-UFH	1.0	-
15	04-PEG-Hirudin	1.0	2.5 (2.4-2.6)
	05-PEG-Hirudin	1.7 (1.5-2.0)	-
	06-PEG-Hirudin	1.9 (1.8-2.3)	-
20	07-PEG-Hirudin	1.9 (1.6-2.4)	-
	08-PEG-Hirudin	2.0 (1.7-2.4)	2.6 (2.3-3.1)
	09-PEG-Hirudin	2.0 (1.8-2.4)	-
25	10-PEG-Hirudin	2.0 (1.8-2.4)	-
	11-PEG-Hirudin	2.0 (1.7-2.3)	-
	12-PEG-Hirudin	2.0 (1.6-2.3)	-
30	13-PEG-Hirudin	1.9 (1.5-2.2)	2.5 (2.3-2.7)

35

40

45



## 19

Tabelle 2: Bestimmung der anti-IIa-Aktivität

Nr. der Dialyse	Anti-IIa	Anti-IIa	Anti-IIa
	Vor Dialyse [ng/ml]	Bolus 5'p.a. [ng/ml]	Nach Dialyse [ng/ml]
5			
	01-UFH		
	02-UFH		
	03-UFH		
10	04-PEG-Hirudin	0	1298 (925-1532)
	05-PEG-Hirudin	275 (197-322)	818 (660-958)
	06-PEG-Hirudin	-	842 (586-1100)
	07-PEG-Hirudin	426 (275-539)	-
15	08-PEG-Hirudin	432 (237-627)	942 (733-1201)
	09-PEG-Hirudin	536 (448-699)	953 (681-1242)
	10-PEG-Hirudin	518 (326-674)	1240 (910-1436)
20	11-PEG-Hirudin	462 (344-555)	951 (704-1288)
	12-PEG-Hirudin	516 (438-654)	995 (758-1691)
25	13-PEG-Hirudin	491 (373-677)	956 (685-1735)
		487 (276-614)	950 (648-1679)
		1076 (789-1270)	878 (688-1243)
			834 (584-1133)

30

35

40

45

Tabelle 3: Bestimmung der ECT

Nr. der Dialyse	ECT Vor Dialyse [ratio]	ECT Bolus 5'p.a. [ratio]	ECT Nach Dialyse [ratio]
5			
	01-UFH		
	02-UFH		
	03-UFH		
10	04-PEG-Hirudin	1.0 3.0 (2.7-3.9)	2.3 (2.0-2.5)
	05-PEG-Hirudin	1.6 (1.4-1.7)	- 2.4 (2.0-2.7)
	06-PEG-Hirudin	1.8 (1.6-2.0)	- 2.5 (2.3-2.7)
15	07-PEG-Hirudin	1.9 (1.6-2.0)	- 2.5 (2.2-2.8)
	08-PEG-Hirudin	1.9 (1.8-2.1)	3.1 (2.7-3.4) 2.6 (2.2-2.8)
	09-PEG-Hirudin	2.1 (1.7-2.3)	- 2.6 (2.4-2.9)
20	10-PEG-Hirudin	2.0 (1.8-2.2)	- 2.6 (2.4-2.7)
	11-PEG-Hirudin	2.1 (2.0-2.2)	- 2.6 (2.3-3.0)
25	12-PEG-Hirudin	2.1 (1.8-2.4)	- 2.6 (2.4-2.8)
	13-PEG-Hirudin	2.0 (1.8-2.3)	3.1 (2.7-3.5) 2.6 (2.3-2.8)

## 30 Referenzbeispiel 1

## Bestimmung der APTT

Die Bestimmung der aktivierten partiellen Thromboplastinzeit (APTT) beruht auf der Fibrinbildung im Plasma, die durch Zugabe eines partiellen Thromboplastins (Actin FS) und Calciumionen zum Plasma ausgelöst wird. Als Aktivator dient Ellagsäure.

9 Volumina venöses Blut + 1 Volumen Citrat (0,13 mol/l) werden vorsichtig gemischt und 10 min bei 1600 x g und 2-10°C zentrifugiert. Das Probenvolumen beträgt mindestens 450 µl. Der Probenversand erfolgt erforderlichenfalls in gefrorenem Zustand, die Probenaufbewahrung in Gefrierschränken.

Als Kontrollen werden Kontrollplasma im Normalbereich, Kontrollplasma im therapeutischen Bereich, Kontrollplasma im tief therapeutischen Bereich sowie eine Qualitätskontrolle im normalen Be-

## 21

reich, z.B. die handelsüblichen Kontrollen der Firma Dade Citrol 1, Citrol 2, Citrol 3 bzw. Coag Trol N verwendet.

Die Messung wird am ACL 3000 durchgeführt.

5

Das ACL 3000 ist ein vollautomatisches, mikrocomputer-gesteuertes Zentrifugalanalysensystem. Nach dem Start des Analysenzyklus werden Probe und Actin getrennt in die Halbküvetten eines Reaktionsrotors aus Acrylglas mit 20 Küvetten pipettiert, gemischt und anschließend inkubiert. Nach der Inkubation wird Calciumchlorid in die Küvetten pipettiert, gemischt und gemessen. Messungen werden während der Drehung des Rotors durchgeführt. Als Lichtquelle für die nephelometrische Messung dient eine Leuchtdiode (LED), deren Lichtstrahl über ein Lichtleitersystem ( $\lambda=660\text{nm}$ ) auf die Meßküvet-

10  
15  
20

ten gerichtet ist. Die Streulichtverteilung wird mit Hilfe eines unter dem Rotorträger befindlichen Halbleitersensors im Winkel von  $90^\circ$  zur Lichtquelle gemessen. Die Meßergebnisse können auch als Ratio-Wert angegeben werden und beschreiben das Verhältnis des aktuellen Wertes zum individuellen Basiswert eines Patienten vor der Dialyse unter PEG-Hirudin.

Die Meßgenauigkeit liegt bei  $+10\%$  bis  $-10\%$ .

#### Referenzbeispiel 2

25

#### Bestimmung der anti-IIa-Aktivität

Die Bestimmung der anti-IIa-Aktivität beruht auf der Messung der verbleibenden Aktivität nach Zugabe von überschüssigem Thrombin zur Probe. Heparin und andere Serinproteasen als Thrombin werden vor dem Test neutralisiert, indem man Prothaminchlorid und Aprotinin zur Probe gibt. Verbleibendes Thrombin spaltet das chromogene Substrat S2238, welches der Probe zugesetzt wird.

30

35 9 Volumina venöses Blut und 1 Volumen Citrat ( $0,13\text{ mol/l}$ ) werden vorsichtig gemischt und 10 min bei  $1600 \times g$  und  $2-10^\circ\text{C}$  zentrifugiert. Das Probenvolumen beträgt etwa  $100\text{ }\mu\text{l}$ . Der Probenversand erfolgt erforderlichenfalls in gefrorenem Zustand, die Probenaufbewahrung in Gefrierschränken.

40

Im Rahmen der PEG-Hirudin-Bestimmung werden folgende Standards verwendet:

Standard A: PEG-Hirudin-Konzentration  $[c] = 26,6\text{ mg/ml}$ ; spezifische Aktivität von  $11696\text{ ATU/mg Protein}$

45

## 22

Standard B: [c] = 500 µg/ml

(1:53,3-Verdünnung von Standard A mit 0,5% BSA)

5 Standard C: [c] = 50 µg/ml

(1:10-Verdünnung von Standard B mit 0,5% BSA)

Standard D: [c] = 1000 ng/ml

10

(1:50-Verdünnung von Standard C mit normalem humanen Citratplasma)

Standard B - D werden aliquotiert und vor Gebrauch in gefrorenem  
15 Zustand gelagert.

Durch geeignete Verdünnung von Standard D mit normalem humanem Citratplasma werden Eichproben mit Konzentrationen von 100, 200, 400, 600 und 800 mg/ml zubereitet.

20

Entsprechend läßt sich diese Methode zur Bestimmung weiterer koagulationshemmender Wirkstoffe standardisieren.

Die Messung wird am ACL 3000 durchgeführt (Inkubationszeit: 120  
25 s; Inter-Ramp-Intervall: 3 s; Verzögerungszeit: 3 s; Aquisitionszeit: 120 s; Geschwindigkeit: 600 rpm). Die Extinktion wird mit einem 405 nm Filter bei konstanter Rotorgeschwindigkeit gemessen.

Die Meßgenauigkeit liegt bei +20 bis -10%.

30

Referenzbeispiel 3

Bestimmung der ECT

35 Die Bestimmung der ECT (Ecarin Clotting Time) beruht auf der Inhibierung der Gerinnungsaktivität von Meizothrombin. Ecarin, eine gereinigte Fraktion des Giftes Echis carinatus, erzeugt Meizothrombin durch Prothrombin-Spaltung im Plasma. Es wird die Zeit bis zur Ecarin-induzierten Fibrinogengerinnung gemessen.

40

9 Volumen venöses Blut und 1 Volumen Citrat (0,13 mol/l) werden vorsichtig gemischt. Das Probenvolumen beträgt etwa 100 µl. Der Probenversand erfolgt erforderlichenfalls in gefrorenem Zustand, die Probenaufbewahrung in Gefrierschränken.

45

## 23

Im Rahmen der PEG-Hirudin-Bestimmung werden folgende Standards verwendet:

Standard A: PEG-Hirudin-Konzentration [c] = 26,6 mg/ml; spezifische Aktivität von 11696 ATU/mg

Standard B: [c] = 500 µg/ml

(1:53,3-Verdünnung von Standard A mit 0,5% BSA)

10

Standard C: [c] = 50 µg/ml

(1:10-Verdünnung von Standard B mit 0,5% BSA)

15 Standard E: [c] = 2.500 ng/ml

(1:20-Verdünnung von Standard C mit normalem humanen Citratplasma)

20 Standard B - E werden aliquotiert und vor Gebrauch in gefrorenem Zustand gelagert.

Durch geeignete Verdünnung von Standard E mit normalem humanem Citratplasma werden Eichproben mit Konzentrationen von 250, 500,

25 1500, 2000 und 2.500 mg/ml zubereitet.

Entsprechend läßt sich diese Methode zur Bestimmung weiterer koagulationshemmender Wirkstoffe standardisieren.

30 Die Messung wird am ACL 3000 durchgeführt (Inkubationszeit: 120 s; Inter-Ramp-Intervall: 1 s; Verzögerungszeit: 0 s; Aquisitionszeit: 800 s; Geschwindigkeit: 1200 rpm).

Die Meßergebnisse können auch als Ratio-Wert angegeben werden und  
35 beschreiben das Verhältnis des aktuellen Wertes zum individuellen Basiswert eines Patienten vor der Dialyse unter PEG-Hirudin.

Die Meßgenauigkeit liegt bei +30 bis -10%.

#### 40 Referenzbeispiel 4

Bestimmung der terminalen Halbwertszeit  $\tau_{1/2}$

Die terminale Halbwertszeit  $\tau_{1/2}$  berechnet sich gemäß  $0,693/\lambda_2$ .  $\lambda_2$

45 steht für die terminale Eliminationsrate, die durch lineare Regression einer logarithmischen Auftragung der Konzentration des betreffenden Wirkstoffs im Blut gegen die Zeit als terminale

## 24

Steigung der Konzentrations-Zeit-Kurve bestimmt wird. Beispielsweise kann auf Basis des in der nachfolgenden Tabelle 4 angegebenen zeitabhängigen Konzentrationsverlaufs  $\lambda_z$  zu 0,086 1/h und  $\tau_{1/2}$  zu 8,04 h berechnet werden.

5

Tabelle 4

10	Zeit [h]	Konzentration [nmol/l]
	0	0
	0.1667	143
	0.3333	256
15	0.5	213
	0.6667	193
	0.8333	171
	1	139
	1.483	123
20	2	93
	4	58
	6	38
	7.983	23
	9.983	34
25	11.98	30
	15.97	20
	24.03	9
	28	8
	32.17	5
30		

35

40

45

KNOLL AG

9901328

0480/01227

25

## SEQUENCE LISTING

&lt;110&gt; Knoll AG

<120> USE OF COAGULATION INHIBITING SUBSTANCES FOR THE  
EXTRACORPORAL TREATMENT OF BLOOD

&lt;130&gt; M/41004

&lt;140&gt;

&lt;141&gt;

&lt;160&gt; 1

&lt;170&gt; PatentIn Ver. 2.1

&lt;210&gt; 1

&lt;211&gt; 65

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

<223> Description of Artificial Sequence:recombinant  
hirudin mutein

&lt;400&gt; 1

Val Val Tyr Thr Asp Cys Thr Glu Ser Gly Gln Asn Leu Cys Leu Cys  
1 5 10 15Glu Gly Ser Asn Val Cys Gly Gln Gly Asn Lys Cys Ile Leu Gly Ser  
20 25 30Lys Gly Glu Arg Asn Gln Cys Val Thr Gly Glu Gly Thr Pro Arg Pro  
35 40 45Gln Ser His Asn Asp Gly Asp Phe Glu Glu Ile Pro Glu Glu Tyr Leu  
50 55 60Gln  
65





EPO - Munich  
20

20. März 2000

## Patentansprüche

1. Verwendung eines koagulationshemmenden Wirkstoffs zur Herstellung eines Medikaments zur Behandlung von Individuen mit extrakorporaler Blutführung als Antikoagulans während der extrakorporalen Blutführung und zur Prophylaxe von Gefäßkomplikationen nach der extrakorporalen Blutführung.
2. Verwendung nach Anspruch 1 eines koagulationshemmenden Wirkstoffs mit einer terminalen Halbwertszeit von wenigstens etwa 4 Stunden.
3. Verwendung nach Anspruch 1 oder 2 eines koagulationshemmenden Wirkstoffs mit einer nachhaltigen pharmakodynamischen Wirksamkeit.
4. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche von PEG-Hirudin.
5. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche zur Behandlung von chronisch niereninsuffizienten Individuen mit regelmäßigem Hämodialysebedarf.
6. Verwendung nach Anspruch 5 in Form einer Einzeldosis pro Hämodialyse.
7. Verwendung nach Anspruch 6, wobei die Einzeldosis zu Beginn einer Hämodialyse verabreicht wird.
8. Verwendung nach Anspruch 6 oder 7, wobei die anlässlich einer Hämodialyse verabreichte Einzeldosis so bemessen ist, daß die APTT während der Hämodialyse etwa 2,7-fach bis etwa 1,8-fach verlängert ist.
9. Verwendung nach einem der Ansprüche 6 bis 8, wobei die anlässlich einer Hämodialyse verabfolgte Einzeldosis so bemessen ist, daß die APTT bis zur darauffolgenden Hämodialyse wenigstens etwa 1,2-fach verlängert ist.



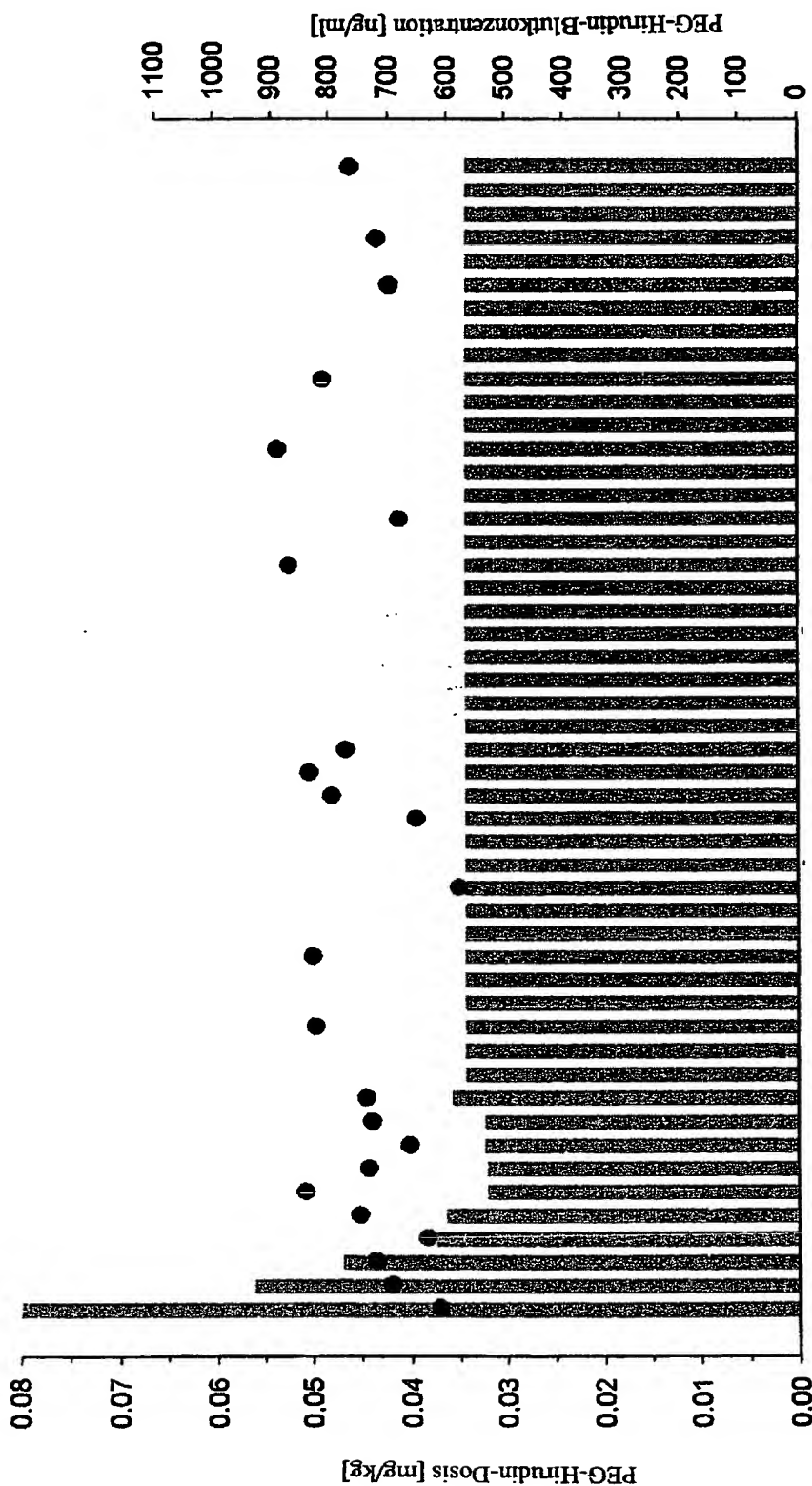
**EPO - Munich**

20

**20. März 2000**

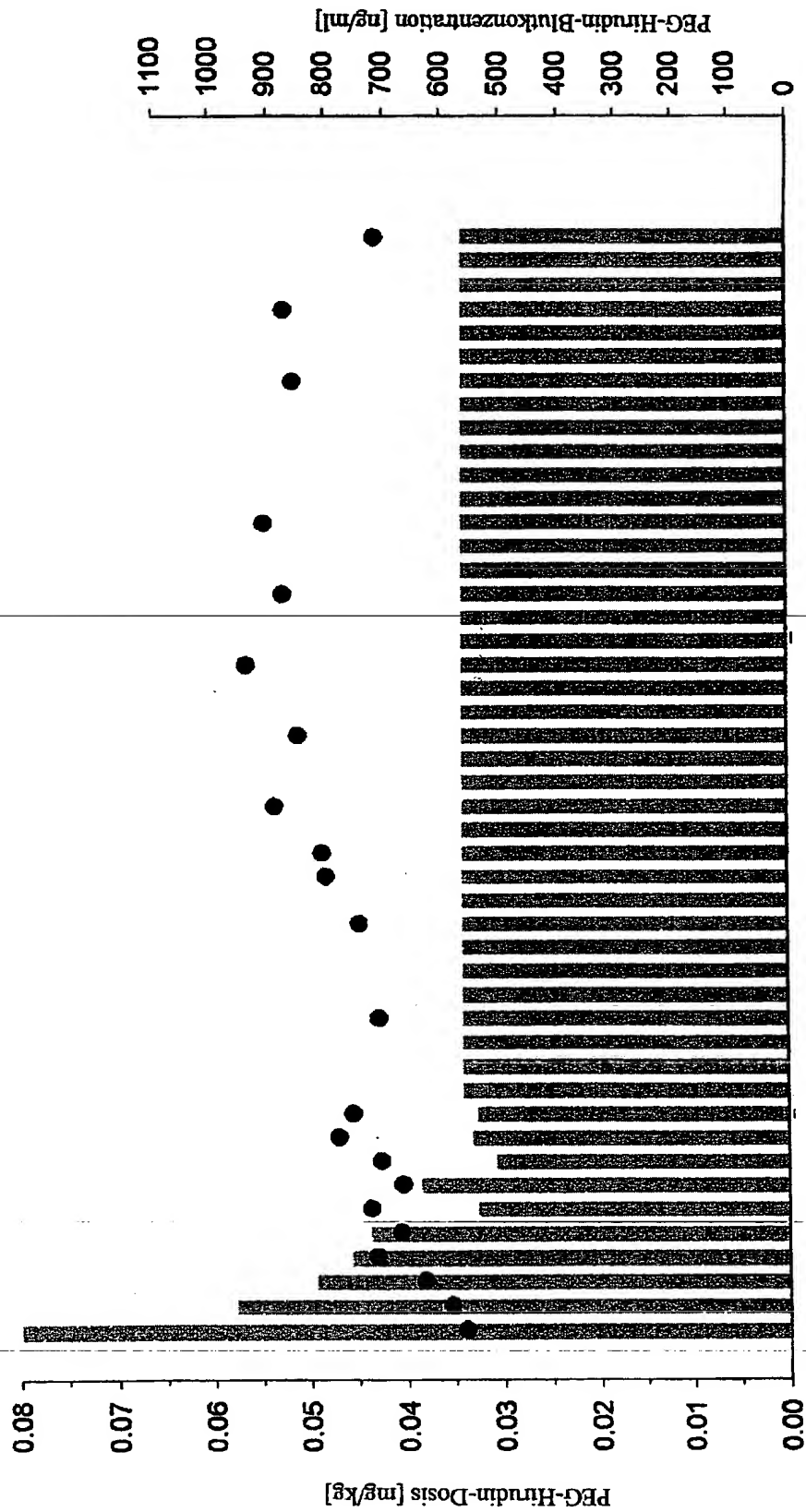
1/4

**Figur 1**



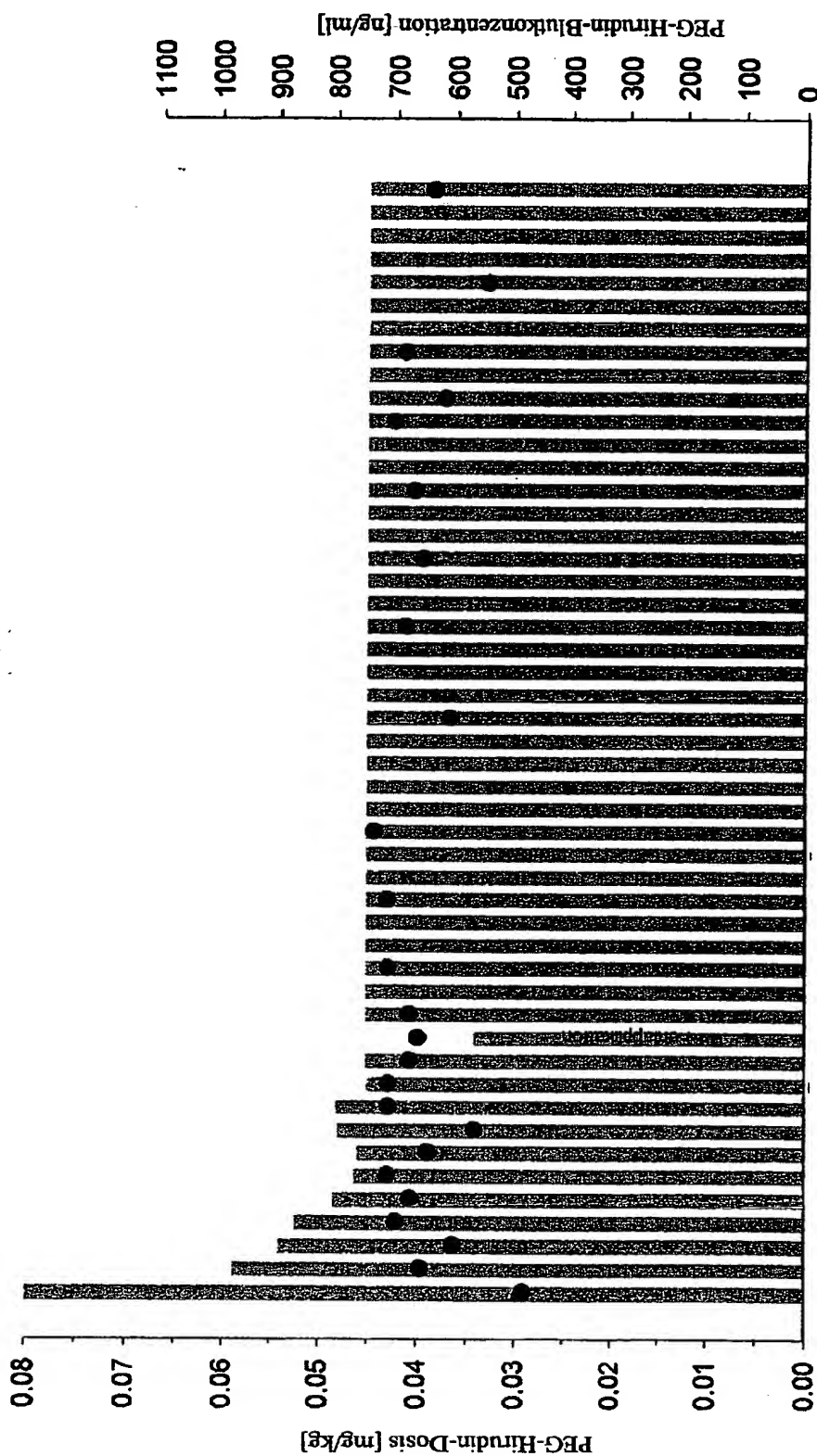
2/4

Figur 2

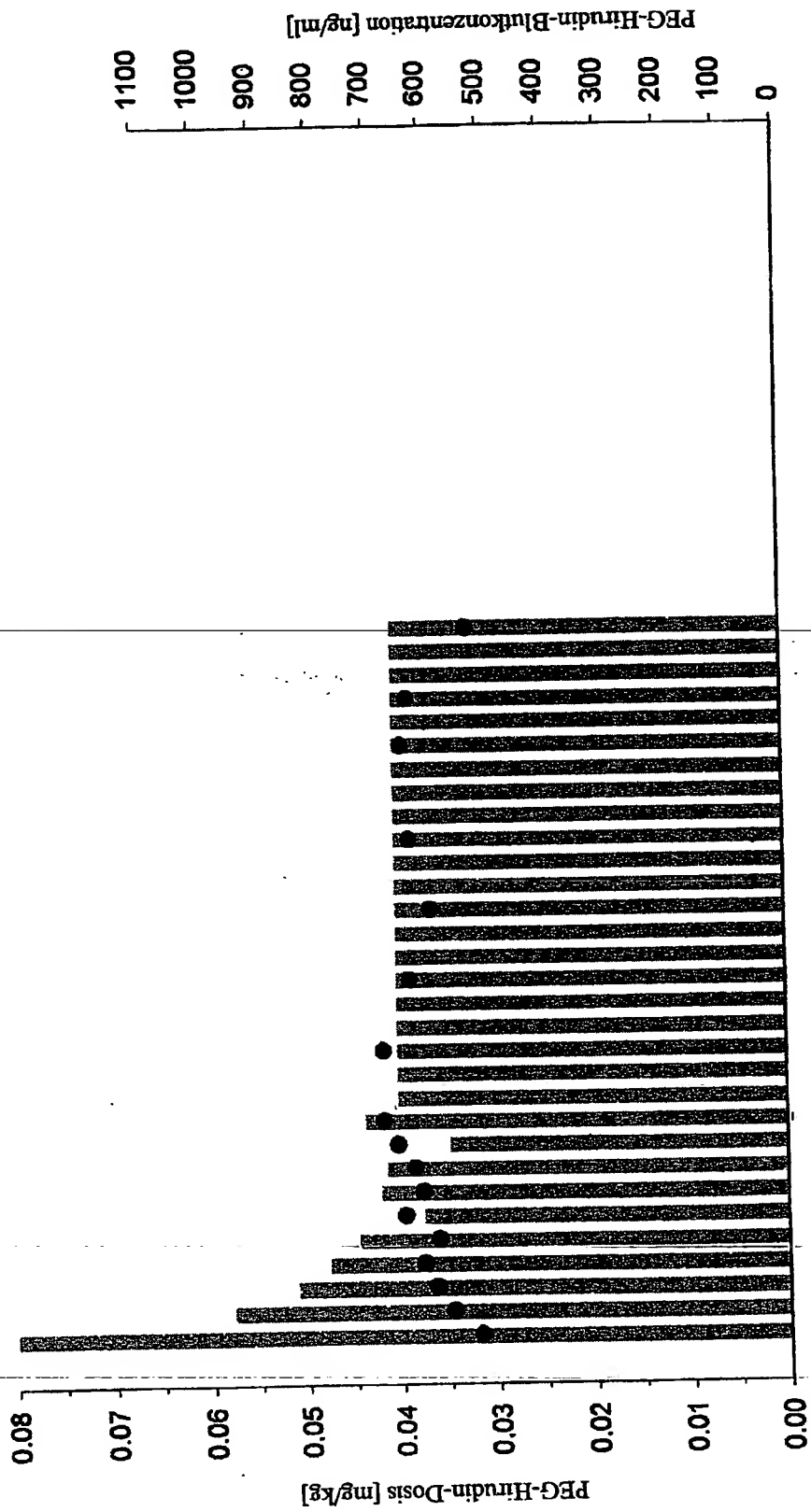


3/4

Figur 3



Figur 4



EPO - Munich  
20

20. März 2000

## Zusammenfassung

Die vorliegende Erfindung betrifft die Verwendung von koagulati-  
5 onshemmender Wirkstoffe zur Behandlung von Individuen mit extra-  
korporaler Blutführung als Antikoagulans während der extrakorpo-  
ralen Blutführung und zur Prophylaxe von Gefäßkomplikationen nach  
der extrakorporalen Blutführung. So können vor allem chronisch  
niereninsuffiziente Individuen mit regelmäßigem Hämodialysebedarf  
10 behandelt und dabei vor Gefäßkomplikationen bewahrt werden, die  
beim Einsatz herkömmlicher Antikoagulantien eine hohe Morbidi-  
täts- und Mortalitätsrate bei dauerbehandelten Dialysepatienten  
zur Folge haben.

15

20

25

30

35

40

45

